



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : G01N 33/487, C12M 1/34</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/19729</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. April 1999 (22.04.99)</p>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06418</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Oktober 1998 (09.10.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 197 44 649.3 9. Oktober 1997 (09.10.97) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): FRAUN- HOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V. [DE/DE]; Leon- rodstrasse 54, D-80636 München (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MEYER, Jörg-Uwe [DE/DE]; Triftstrasse 17a, D-66386 St. Ingbert (DE).</p> <p>(74) Anwalt: MÜNICH, Wilhelm; Kanzlei München & Kollegen, Wilhelm-Mayr-Strasse 11, D-80689 München (DE).</p> </div> <div style="width: 48%; vertical-align: top;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p> </div> </div>		
<p>(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR EXAMINING CELLS USING THE PATCH-CLAMP METHOD</p> <p>(54) Bezeichnung: ZUR ZELLUNTERSUCHUNG MITTELS DER PATCH CLAMP-METHODE BESTIMMTE VORRICHTUNG UND VERFAHREN</p> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> </div> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a device and method for examining cells using the patch-clamp method. To this end, a flat arrangement of a first amount of micro cuvettes is provided for accommodating cells. In addition, a two-dimensional arrangement of a second amount of micro pipettes is provided for the application and can be positioned relative to the two-dimensional arrangement of the micro cuvettes in such a way that a plurality of cells located in the micro cuvettes can be simultaneously examined.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Beschrieben werden eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode. Dabei kommt eine flächige Anordnung einer ersten Anzahl von Mikroküvetten zur Aufnahme von Zellen und eine flächige Anordnung einer zweiten Anzahl von Mikropipetten zum Einsatz, die relativ zur flächigen Anordnung der Mikroküvetten derart positionierbar ist, daß eine Vielzahl von in den Mikroküvetten befindlicher Zellen gleichzeitig untersuchbar sind.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode bestimmte Vorrichtung und Verfahren

BESCHREIBUNG

Technisches Gebiet

Die Erfindung bezieht sich auf eine zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode bestimmte Vorrichtung sowie auf ein dazu bestimmtes Verfahren. Weiterhin ist Gegenstand der Erfindung die Verwendung einer an sich bekannten Vorrichtung zur Messung bioelektrischer Signale zur Zelluntersuchung.

Stand der Technik

Die Patch Clamp-Methode ist ein Verfahren, um bioelektrische Signale, namentlich das elektrische Potential im Innern einer Zelle und den durch ionische Transportprozesse, die sog. Ionenkanäle zustandekommenden Strom durch eine Zellmembran zu messen.

Mit diesem Verfahren ist es möglich, den Strom durch eine Zellmembran sogar separat für einen spezifischen Ionenkanal zu messen und dadurch Erkenntnisse über die Funktionsweise der Zellmembran zu gewinnen. Messungen mithilfe der Patch Clamp-Methode werden in der Neurowissenschaft vorgenommen, um die Wirkung von Pharmaka und Chemotherapeutika auf die Aktivität von Ionenkanälen zu erforschen.

Vorrichtungen zur Messung bioelektrischer Signale sind aus der DE 38 05 808 A1 sowie den US-Paten 4 599 315, 52 29 163 und 5 643 742 bekannt.

Aus der Patch Clamp-Methode wurden verschiedene Varianten entwickelt, um die elektrische Leitfähigkeit in einzelnen Membranabschnitten zu bestimmen. Für die Untersuchung wird die Membran einer Zelle, üblicherweise einer Nervenzelle, mit einer als Mikropipette dienenden Glaskapillare anzusaugt und je nach Variante auch durchstoßen, um das intrazelluläre Potential von typischerweise 1 - 500 $\mu\text{m V}$ mit einer in der Glaskapillare befindlichen Elektrode gegenüber einer Referenzelektrode zu messen. Dabei ist die Zelle mechanisch fest mit der Mikropipette verbunden und steht über ihre Membran mit der umgebenden Lösung in Kontakt.

Gemäß einer anderen Variante wird ein angesaugter Teil einer Zellmembran von der Zelle abgetrennt, um dann die Leitfähigkeit dieses Membranstücks (patch) zu ermitteln. Bezüglich der Art der Membranabtrennung sind verschiedene Varianten geläufig, um das Membranstück für die nachfolgenden Messungen in beiderlei Orientierungen (inside-out patch bzw. outside-out patch) an der Mikropipette zu befestigen.

Die Messung des Potentials innerhalb der Zelle bzw. die Messung von Strömen durch die Zellmembran hindurch erfolgt mit Hilfe von Mikroelektroden, die sich

innerhalb der Mikropipette befinden können oder mit bekannten Verfahren wie der Dünnschichttechnik auf Substraten hergestellt werden, auf denen die zu untersuchenden Neuronen positioniert werden müssen.

Obwohl die Patch Clamp-Methode sich seit ihrer Einführung in der Neurowissenschaft zu einer Routinemessung in neurobiologischen Labors entwickelt hat, ist sie meßtechnisch äußerst anspruchsvoll und erfordert bislang noch eine mikroskopische Kontrolle des Eingriffs an der zu untersuchenden Zelle. Nachteilig ist dabei vor allem, daß dieses Verfahren für den Umgang mit der einzelnen Nervenzelle ein erhebliches Geschick und Feingefühl seitens des Operators voraussetzt; so müssen die Neuronen beispielsweise auf einem Substrat aufgesucht werden und gegebenenfalls auch unmittelbar an Mikroelektroden an der Substratoberfläche positioniert werden, um die erforderlichen Messungen durchführen zu können.

Infolge des manuellen Umgangs mit der einzelnen Zelle ist die Patch Clamp-Methode bislang mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden. Insbesondere bei der Untersuchung einer Vielzahl von Zellen ist dieser Nachteil um so gravierender, da die Zellen nach ihrer Isolierung vom Gewebe räumlich beliebig verteilt sind und aus diesem Grunde nur nacheinander aufgesucht, plaziert und untersucht werden können.

Darstellung der Erfindung

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung sowie ein Verfahren anzugeben, mit denen mit der Patch Clamp-Methode eine Vielzahl von Zellen gleichzeitig zu untersucht, die Untersuchung der Zellen zu automatisiert und so auf die bislang erforderliche mikroskopische Kontrolle verzichtet werden kann. Ferner soll die Untersuchung einer Vielzahl von Zellen auf kleinstem Raum ermöglicht und schließlich der für die Patch Clamp-Messung nötige Zeitaufwand drastisch minimiert werden.

Eine erfindungsgemäße Lösung dieser Aufgabe ist für die Vorrichtung im Anspruch 1 und für das Verfahren im Anspruch 6 angegeben.

Weiterbildungen der Erfindung sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Vorrichtung mit einer flächigen Anordnung einer ersten Anzahl von Mikroküvetten zur Aufnahme von Zellen und mit einer flächigen Anordnung einer zweiten Anzahl von Mikropipetten, die relativ zur flächigen Anordnung der Mikroküvetten positionierbar ist, um eine Vielzahl in den Mikroküvetten befindlicher Zellen gleichzeitig zu untersuchen. Die Messung der bioelektrischen Signale erfolgt dabei mittels der Patch Clamp-Methode.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß ferner durch ein Verfahren gelöst, wonach eine Vielzahl von Zellen angeordnet wird und mittels einer Vielzahl von Mikropipetten eine Vielzahl angeordneter Zellen gleichzeitig untersucht wird.

Durch die systematische räumliche Anordnung sowohl der zur Aufnahme der Zellen bestimmten Mikroküvetten als auch der Mikropipetten wird es erstmals möglich, die Patch Clamp-Methode zu automatisieren und auf diese Weise zeit- und kostensparend durchzuführen. Die zu untersuchenden Neuronen werden von einer flächigen Anordnung von Mikroküvetten - in der Regel ein Substrat mit gleichmäßig verteilten Vertiefungen in seiner Oberfläche - aufgenommen und so auf exakt bestimmbar Positionen gehalten. Eine flächige Anordnung von Mikropipetten ermöglicht bei genauer Positionierung gegenüber der Anordnung der in den Mikroküvetten befindlichen Zellen die gleichzeitige Durchführung einer Vielzahl von Einzelmessungen, die bislang nur nacheinander und bei gleichzeitiger Beobachtung durch ein Mikroskop durchgeführt werden konnten. Die Mikropipetten bzw. Mikroküvetten können auf den entsprechenden Flächen auf engstem Raum angeordnet werden und ermöglichen so den Bau sehr kompakter Meßvorrichtungen. Die Küvetten und Pipetten werden auf den dafür vorgesehenen Flächen vorzugsweise regelmäßig verteilt, d.h. sie bilden bei festem gegenseitigem Abstand untereinander ein gleichmäßiges Raster. Die genaue Gestalt der Raster wird sich in der Praxis

an Größe und Form der Mikropipetten bzw. der Mikroküvetten orientieren.

Eine erfindungsgemäß bevorzugte Ausführungsform der Vorrichtung sieht vor, daß die flächige Anordnung von Mikroküvetten ein der flächigen Anordnung von Mikropipetten angepaßtes, aber in mindestens einer Richtung kleineres Rastermaß besitzt und daß die Anordnung von Mikroküvetten und die Anordnung von Mikropipetten relativ zueinander seitlich versetzbar sind, um wiederholt eine Vielzahl von Zellen gleichzeitig zu untersuchen.

Im einfachsten Fall einer regelmäßigen Anordnung entspricht der Abstand benachbarter Mikroküvetten einem ganzzahligen Bruchteil des Abstandes benachbarter, gegenüber den Mikroküvetten größerer Mikropipetten, wodurch eine wesentlich erhöhte Zahl von Zellen gleichzeitig aufgenommen werden kann als bei einer Anordnung gleich vieler Küvetten wie Pipetten. Die Anzahl gleichzeitiger Messungen ist nur noch durch die Größe der Mikropipetten bzw. durch die für sie vorgesehene Flächengröße begrenzt. Zur Untersuchung sämtlicher in den Mikroküvetten befindlicher Zellen sieht die entsprechende Ausführungsform des Verfahrens vor, daß die Vielzahl von Mikropipetten relativ zu einer Anordnung von Zellen versetzt wird und wiederholt eine Vielzahl angeordneter Zellen untersucht wird. Auf diese Weise kann die erfindungsgemäße Vielfachmessung in kurzen Zeitabständen wiederholt werden, ohne daß es eines zwischenzeitlichen Austausches

der Zellen bedarf. Dies führt zu einer weiteren Steigerung der Durchsatzzahlen.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sieht einen Mikromotor zum Positionieren und/oder zum Versetzen der Anordnung von Mikroküvetten und der Anordnung von Mikropipetten relativ zueinander vor. Der Mikromotor zum Absenken der Mikropipettenanordnung auf die Mikroküvettenanordnung und zum seitlichen Verfahren beider gegeneinander gewährleistet mithilfe der heutigen Feinmechanik und Mikrotechnologie den punktgenauen Kontakt von Neuronen und Pipetten, wodurch die vorgestellte Erfindung die erstmalige Untersuchung einer Vielzahl von Zellen ermöglicht. Dabei kann die Pipettenanordnung oder auch die Küvettenanordnung durch den Mikromotor verfahren werden.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sieht eine Zellzuführeinrichtung und/oder eine Spüleinrichtung zum Entfernen von Zellen vor. Dies führt zu einer weiteren Automatisierung der Messungen und damit zu einer weiteren Zeitersparnis insbesondere im Falle einer Vielfachmessung, die die Aufnahmekapazität der Küvettenansammlung übersteigt.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sieht einen Filter auf der Rückseite der Anordnung der Mikroküvetten vor. Da die zu untersuchenden Zellen von der der Pipettenanordnung zugewandten Seite aus in die Mikroküvetten eingebracht werden und die Mikroküvetten vorzugsweise in Richtung der Pipetten konisch

aufgeweitet sein können, um die Zellen sicher aufzunehmen, empfiehlt sich eine Spülung der Küvettenanordnung von der Rückseite her. In diesem Fall ist ein Filter vorteilhaft, um ein Verstopfen der Mikroküvetten durch kleine Partikel zu verhindern.

Darstellung der Erfindung

Die Erfindung wird nachstehend ohne Beschränkung des allgemeinen Erfindungsgedankens anhand von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen exemplarisch beschrieben, auf die im übrigen hinsichtlich der Offenbarung aller im Text nicht näher erläuterten erfindungsgemäßen Einzelheiten ausdrücklich verwiesen wird. Es zeigen:

Figur 1 einen Querschnitt durch eine erfindungsgemäßen Vorrichtung während der Patch Clamp-Messung,

Figur 2 eine vergrößerte Detailansicht aus Figur 1,

Figur 3 einen Querschnitt einer erfindungsgemäßen Ausführungsform der Vorrichtung, und

Figur 4 eine perspektivische Ansicht der erfindungsgemäßen Anordnungen von Mikroküvetten und Mikropipetten.

Darstellung von Ausführungsbeispielen

Die Figuren 1 und 2 zeigen schematisch eine erfindungsgemäße Vorrichtung während der Patch Clamp-

Messung. Eine Mikroküvettenanordnung 1 weist eine Vielzahl im Raster angeordneter Mikroküvetten zur Aufnahme einer Vielzahl von Zellen 2 auf. Einige der Zellen werden von einer Mikropipettenanordnung 3 berührt bzw. von den Mikropipetten angesaugt. Mit dieser Anordnung von $n \times n$ Pipetten können n^2 Messungen gleichzeitig durchgeführt werden.

Figur 3 zeigt eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einem unterhalb der Mikroküvetten befindlichen Filter 4, gleicht ansonsten der Figur 1.

Die räumliche Anordnung der Mikroküvettenanordnung (MKA) und der Mikropipettenanordnung (MPA) ist in Figur 4 dargestellt. Die MPA befindet sich über der MKA, wobei die spitz zulaufenden Öffnungen der Mikropipetten der MKA zugewandt sind. Die MPA kann durch einen nicht abgebildeten Mikromotor relativ zur MKA verfahren werden.

Für eine ungefähre Einschätzung der typischen Abmessungen der erfindungsgemäßen Vorrichtung werden nachstehend ohne jegliche Beschränkung der Allgemeinheit einige exemplarische Zahlenangaben genannt:

Auf der Mikroküvettenanordnung von der Größe eines Quadratzentimeters befinden sich auf einer Fläche von $6 \times 6 \text{ mm}^2$ entlang jeder Richtung des quadratischen Rasters 160 Küvetten und somit insgesamt 25600 Küvetten im gegenseitigen Abstand von $50 \text{ }\mu\text{m}$. Die Mikropi-

pettenanordnung weist auf einer Fläche von mindestens $2 \times 2 \text{ mm}^2$ 16 im quadratischen Raster angeordnete Mikropipetten (Nozzles) mit einem gegenseitigen Abstand von $400 \text{ }\mu\text{m}$ auf. Das Rastermaß der Mikropipettenanordnung entspricht hier also dem achtfachen Rastermaß der Mikroküvettenanordnung. Um alle in der MKA befindlichen Zellen zu untersuchen, kann die MPA in beiden Richtungen parallel zum MKA in 40 Schritten verfahren und damit in insgesamt 1600 unterschiedliche Positionen gebracht werden.

Mikroküvettenanordnung sowie Mikropipettenanordnung werden mithilfe lithographischer Methoden der Halbleitertechnik, die Elektroden der MPA in Dünnschichttechnik gefertigt.

Mikromechanische Strukturen dienen zur Justierung des Motors; die Komponenten werden feinmechanisch und mikrotechnisch verbunden.

Ein Mikroprozessor steuert die Mikroaktoren und erfaßt die anfallenden Meßdaten, die dann elektronisch ausgewertet werden.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung und dem beschriebenen Verfahren können (derzeit) bereits einige Tausend Messungen in wenigen Minuten durchgeführt werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Vorrichtung zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode mit
 - einer flächigen Anordnung einer ersten Anzahl von Mikroküvetten (1) zur Aufnahme von Zellen (2), und
 - einer flächigen Anordnung einer zweiten Anzahl von Mikropipetten (3), die relativ zur flächigen Anordnung der Mikroküvetten derart positionierbar ist, daß eine Vielzahl von in den Mikroküvetten befindlicher Zellen gleichzeitig untersuchbar ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die flächige Anordnung von Mikroküvetten ein der flächigen Anordnung von Mikropipetten angepaßtes, aber in mindestens einer Richtung kleineres Rastermaß besitzt und daß die Anordnung von Mikroküvetten und die Anordnung von Mikropipetten relativ zueinander seitlich versetzbar sind, um wiederholt eine Vielzahl von Zellen gleichzeitig zu untersuchen.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch einen Mikromotor zum Positionieren und/oder zum Versetzen der Anordnung

von Mikroküvetten und der Anordnung von Mikropipetten relativ zueinander.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, gekennzeichnet durch eine Zellzuführeinrichtung und/oder eine Spüleinrichtung zum Entfernen von Zellen.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch einen Filter (4) auf der Rückseite der Anordnung der Mikroküvetten.
6. Zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode bestimmtes Verfahren, wonach eine Vielzahl von Zellen (2) angeordnet wird und mithilfe einer Vielzahl von Mikropipetten (3) eine Vielzahl angeordneter Zellen gleichzeitig untersucht wird.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Vielzahl von Mikropipetten relativ zu einer Anordnung von Zellen versetzt wird und wiederholt eine Vielzahl angeordneter Zellen untersucht wird.
8. Verwendung einer Vorrichtung zur Zelluntersuchung mittels der Patch Clamp-Methode, die
 - eine flächige Anordnung einer ersten Anzahl von Mikroküvetten (1) zur Aufnahme von Zellen (2) und

eine flächige Anordnung einer zweiten Anzahl von Mikropipetten (3) aufweist, die relativ zur flächigen Anordnung der Mikroküvetten derart positionierbar ist, daß eine Vielzahl von in den Mikroküvetten befindlicher Zellen gleichzeitig untersuchbar ist.

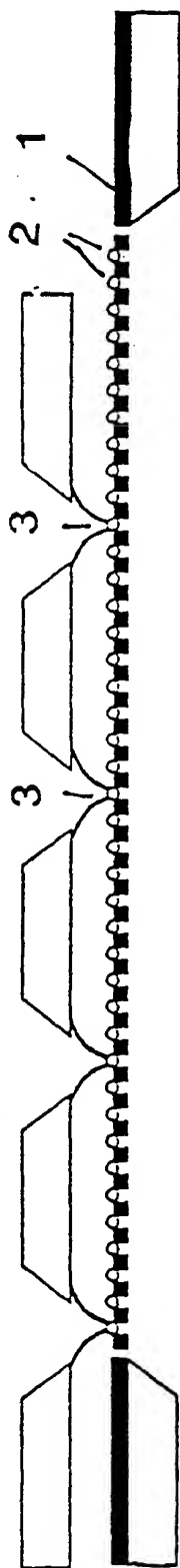


FIG. 1

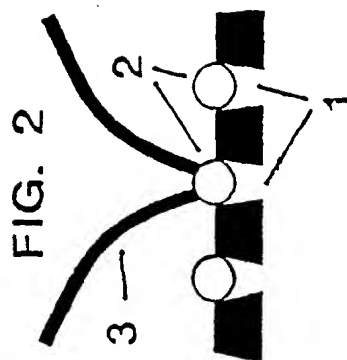


FIG. 2

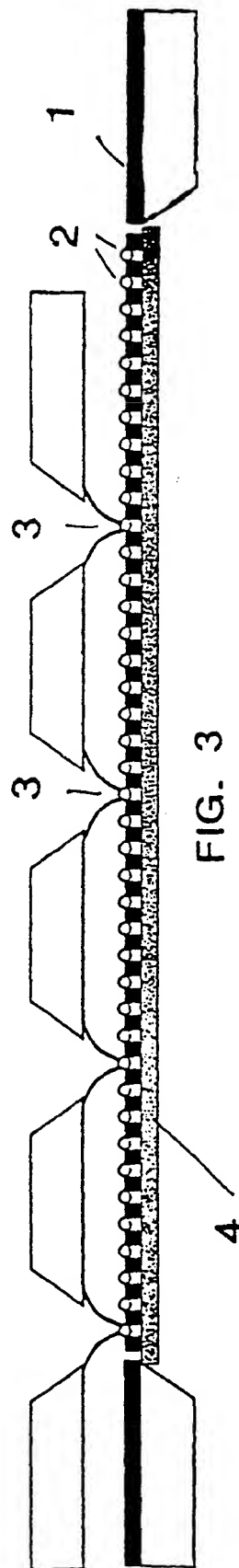


FIG. 3

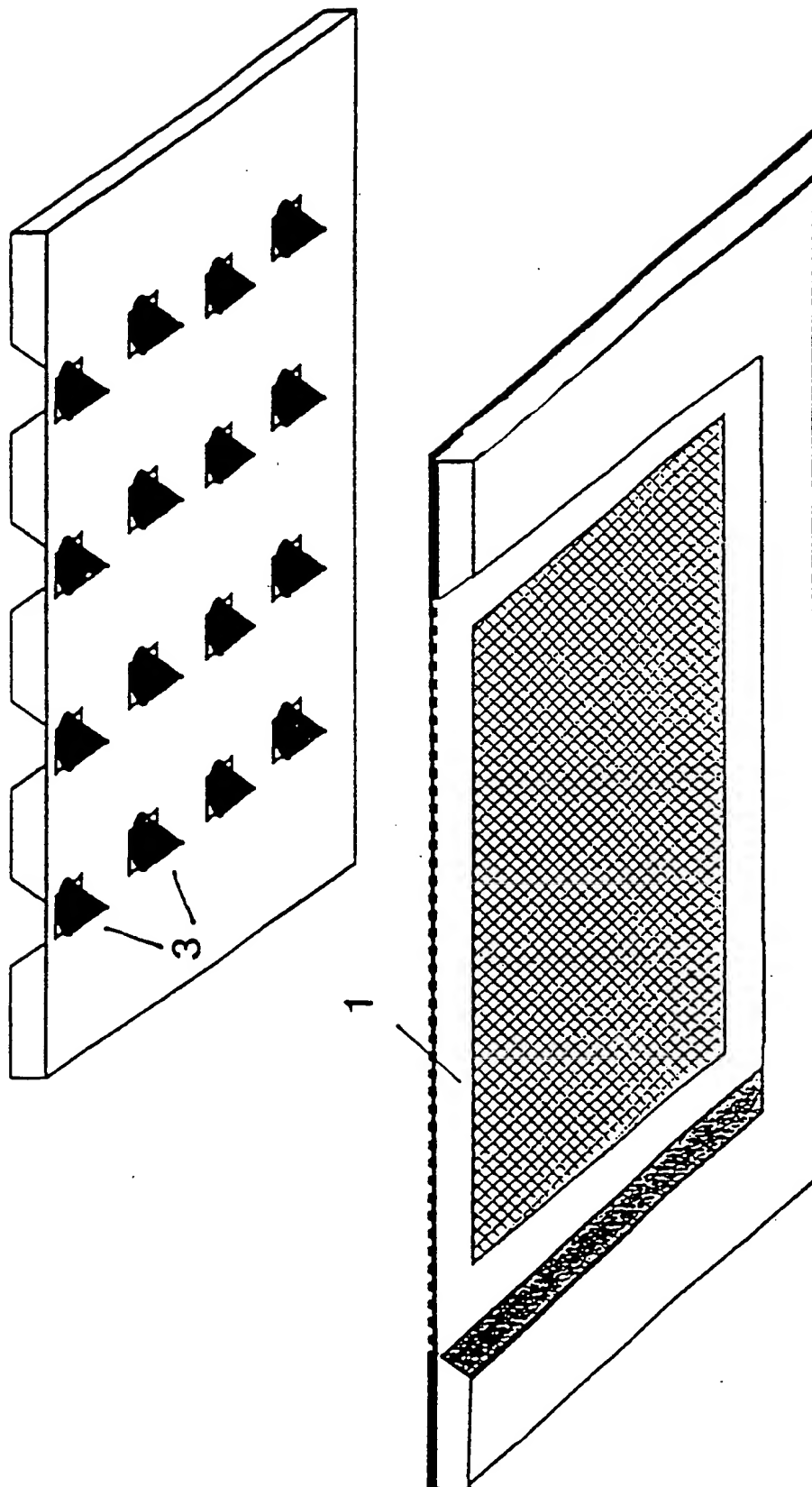


FIG. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/06418

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 G01N33/487 C12M1/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 092 184 A (DAVIDSON JR ROGER H ET AL) 3 March 1992 see the whole document ---	1,6,8
Y	WO 96 13721 A (NEUROSEARCH AS) 9 May 1996 see the whole document ---	1,6,8
A	DE 33 42 504 A (LABORGERAETE & ANALYSENSYSTEME) 5 June 1985 see the whole document ---	1,6,8
A	DE 38 05 808 A (EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG) 7 September 1989 see the whole document ---	1,6,8
A	US 5 183 744 A (KAWAMURA YOSHIO ET AL) 2 February 1993 see the whole document ---	1,6,8
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 March 1999

Date of mailing of the international search report

09/03/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk

Authorized officer

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/06418

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 643 742 A (HUBER OSKAR WERNER ET AL) 1 July 1997 see the whole document . ---	1,6,8
A	EP 0 542 422 A (GEN ATOMICS) 19 May 1993 see the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/06418

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5092184	A	03-03-1992	NONE	
WO 9613721	A	09-05-1996	AU 2788695 A CA 2203886 A EP 0788600 A JP 10509794 T	23-05-1996 09-05-1996 13-08-1997 22-09-1998
DE 3342504	A	05-06-1985	NONE	
DE 3805808	A	07-09-1989	NONE	
US 5183744	A	02-02-1993	JP 2117380 A JP 2747304 B JP 2131569 A JP 2829005 B	01-05-1990 06-05-1998 21-05-1990 25-11-1998
US 5643742	A	01-07-1997	CA 2140892 A WO 9403583 A EP 0655086 A JP 8500438 T AU 7682491 A CA 2079897 A EP 0523148 A WO 9115595 A	17-02-1994 17-02-1994 31-05-1995 16-01-1994 30-10-1991 04-10-1991 20-01-1993 17-10-1994
EP 0542422	A	19-05-1993	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intr. Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06418

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 G01N33/487 C12M1/34

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 G01N C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 092 184 A (DAVIDSON JR ROGER H ET AL) 3. März 1992 siehe das ganze Dokument	1,6,8
Y	WO 96 13721 A (NEUROSEARCH AS) 9. Mai 1996 siehe das ganze Dokument	1,6,8
A	DE 33 42 504 A (LABORGERAETE & ANALYSENSYSTEME) 5. Juni 1985 siehe das ganze Dokument	1,6,8
A	DE 38 05 808 A (EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG) 7. September 1989 siehe das ganze Dokument	1,6,8
A	US 5 183 744 A (KAWAMURA YOSHIO ET AL) 2. Februar 1993 siehe das ganze Dokument	1,6,8

-/--



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindenscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindenscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. März 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/03/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 LV Rijswijk

Bevollmächtigter Bediensteter

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06418

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 643 742 A (HUBER OSKAR WERNER ET AL) 1. Juli 1997 siehe das ganze Dokument -----	1,6,8
A	EP 0 542 422 A (GEN ATOMICS) 19. Mai 1993 siehe das ganze Dokument -----	1

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06418

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5092184 A	03-03-1992	KEINE	
WO 9613721 A	09-05-1996	AU 2788695 A	23-05-1996
		CA 2203886 A	09-05-1996
		EP 0788600 A	13-08-1997
		JP 10509794 T	22-09-1998
DE 3342504 A	05-06-1985	KEINE	
DE 3805808 A	07-09-1989	KEINE	
US 5183744 A	02-02-1993	JP 2117380 A	01-05-1990
		JP 2747304 B	06-05-1998
		JP 2131569 A	21-05-1990
		JP 2829005 B	25-11-1998
US 5643742 A	01-07-1997	CA 2140892 A	17-02-1994
		WO 9403583 A	17-02-1994
		EP 0655086 A	31-05-1995
		JP 8500438 T	16-01-1994
		AU 7682491 A	30-10-1991
		CA 2079897 A	04-10-1991
		EP 0523148 A	20-01-1993
		WO 9115595 A	17-10-1994
EP 0542422 A	19-05-1993	KEINE	

